



## 手 続 補 正 書

(法 第 11 条 の 規 定 に よ る 補 正)

特 許 庁 審 査 官 殿

1 . 国 際 出 願 の 表 示 PCT/JP03/09140

2 . 出 願 人

名 称 遠 藤 弥 重 太

ENDO, Yaeta

宛 名 〒 791-8016 日 本 国 愛 媛 県 松 山 市

久 万 の 台 478-17

478-17, Kumanodai, Matsuyama-shi, Ehime

791-8016 Japan

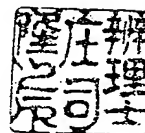
国 籍 日 本 JAPAN

住 所 日 本 JAPAN

3 . 代 理 人

氏 名 (8890) 弁 理 士 庄 司 隆

SHOJI Takashi



宛 名 〒 101-0032 東 京 都 千 代 田 区 岩 本 町 3 丁 目 2 番 1

0 号 SN 岩 本 町 ビ ル 6 階

6F, SN Iwamotocho Bldg.

2-10, Iwamoto 3-chome

Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032 Japan

4 . 補 正 の 対 象

請 求 の 範 囲

5. 補正の内容

請求の範囲

- (1) 請求の範囲 1, 2, 9, 16, 18~20 を補正した。
- (2) 請求の範囲 10, 11, 17 を削除した。
- (3) 請求の範囲 28 を追加した。

6. 添付書類

- (1) 請求の範囲 (40~45 頁)

## 請求の範囲

1. (補正後) 単鎖抗体のリンカー部分に標識化物質を担持することを特徴とする標識化単鎖抗体。
- 5 2. (補正後) 単鎖抗体のリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該抗体の重鎖および軽鎖が可変領域であることを特徴とする標識化単鎖抗体。
3. 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定
- 10 の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。
4. 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得
- 15 る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。
5. 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。
- 20 6. 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。
7. 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー
- 25 一部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであり、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単鎖抗体。

8. 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであり、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単

5 鎖抗体。

9. (補正後) 天然型の抗体と同等のK<sub>d</sub>値を有し、コムギ胚芽を使った無細胞タンパク質翻訳系によって製造された請求項1～8の何れかーに記載の標識化単鎖抗体。

10. (削除)

10 11. (削除)

12. 特定抗原への結合性を有する抗体の重鎖および軽鎖をコードするDNAが、リンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該リンカーをコードするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むことを特徴とするDNA。

15 13. 特定抗原への結合性を有する抗体の可変領域である重鎖および軽鎖をコードするDNAが、リンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該リンカーをコードするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むことを特徴とするDNA。

14. 特定抗原への結合性を有する抗体の重鎖および軽鎖をコードするDNAが、  
20 翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該標識物質を結合し得る塩基配列が、ビオチンリガーゼにより認識されるアミノ酸配列をコードすることを特徴とするDNA。

15. 特定抗原への結合性を有する抗体の可変領域である重鎖および軽鎖をコー  
25 ドするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該標識物質を結合し得る塩基配列が、ビオチンリガーゼにより認識されるアミノ

酸配列をコードすることを特徴とするDNA。

16. (補正後) 請求項12～15のいずれかに記載のDNAを、標識化物質および特定の酵素の存在下でタンパク質合成系を用いて転写翻訳することを特徴とする標識化単鎖抗体の製造方法。

5 17. (削除)

18. (補正後) タンパク質合成系が、コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質翻訳系であって、その翻訳反応液中の還元剤の濃度が、製造する標識化単鎖抗体のジスルフィド結合が保持され、かつ無細胞タンパク質合成が可能な濃度であることを特徴とする請求項16に記載の標識化単鎖抗体の製造方法。

10 19. (補正後) さらにジスルフィド結合交換反応を触媒する酵素の存在下で行うことを特徴とする請求項18に記載の標識化単鎖抗体の製造方法。

20. (補正後) コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質翻訳系を使い請求項19に記載の標識化単鎖抗体の製造方法によって製造された天然型の抗体と同等のK<sub>d</sub>値を有する標識化単鎖抗体。

15 21. 抗体の標識化物質と特異的に結合する物質を表面に有する複数の領域に区画された基盤に、以下のいずれか1に記載の抗体を接触させることを特徴とする固相化単鎖抗体の製造方法。

1) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持することを特徴とする標識化単鎖抗体。

20 2) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該抗体の重鎖および軽鎖が可変領域であることを特徴とする標識化単鎖抗体。

3) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定  
25 の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。

4) 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有

し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。

5 5) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。

6) 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識  
10 化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。

7) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであ  
15 り、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単鎖抗体。

8) 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであり、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単  
20 鎖抗体。

22. 請求項21に記載の固相化単鎖抗体の製造方法において、複数の領域に区画された基盤上で2種以上の異なる固相化単鎖抗体を固相化することを特徴とする固相化単鎖抗体の製造方法。

23. 標識化物質がビオチンであり、該標識化物質と特異的に結合する物質がストレプトアビジンであることを特徴とする請求項21または22に記載の製造方法。  
25

24. 請求項21～23に記載の製造方法により調製される固相化単鎖抗体。

25. 請求項24に記載の固相化単鎖抗体に被検物質を接触させ、該固相化単鎖抗体との結合性を解析することを特徴とする抗原抗体反応の解析方法。

26. 以下の工程を含む、抗原抗体反応の解析方法。

(1) 以下の要素の①又は②を含む、単鎖抗体のジスルフィド結合が保持される

5 条件下において、標識化単鎖抗体を調製する工程、

① 特定抗原への結合性を有する抗体の重鎖および軽鎖をコードするDNAが、  
翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリ  
ンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAを、特定の酵素の  
存在下でコムギ無細胞系タンパク質合成系を用いて転写翻訳し、標識化単鎖  
10 抗体を製造する工程、

② 特定抗原への結合性を有する抗体の可変領域である重鎖および軽鎖をコー  
ドするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩  
基配列を含むリンカーをコードするDNAを介して連結されているDNA  
を、特定の酵素の存在下でコムギ無細胞系タンパク質合成系を用いて転写翻  
15 訳し、標識化単鎖抗体を製造する工程、

(2) 以下の要素を含む、標識化単鎖抗体の標識化物質が固相化物質である場合  
における標識化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合する物質（アダプター物質  
）を調製する工程、

①複数の領域に区画された基盤に標識化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合  
20 する物質（アダプター物質）を固定する工程、

②前記①の基盤に固定されなかった標識化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結  
合する物質（アダプター物質）を除去する工程、

③前記①又は②の工程の前後において、適宜基盤における非特異的吸着を除去  
する工程、

25 (3) 以下の要素を含む、標識化単鎖抗体の標識化物質が固相化物質である場合  
における固相化標識化単鎖抗体を調製する工程、

①前記(1) ①又は②で調製した標識化単鎖抗体の標識化物質を(2)の標識

- 化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合する物質（アダプター物質）を表面に有する複数の領域に区画された基盤に必要量を添加、接触させる工程、
- ②前記①の基盤上の標識化単鎖抗体と特異的に結合する物質（アダプター物質）に固定されなかった標識化単鎖抗体を除去する工程、
- 5 ③前期②の工程に続いて、適宜基盤における非特異的吸着を除去する工程、
- （４）以下の要素を含む、標識化物質がシグナル物質である場合における標識化単鎖抗体を調製する工程、
- ①適宜、複数の領域に区画された基盤における非特異的吸着を除去する工程、
- ②前記（１）①又は②で調製した標識化単鎖抗体の標識化物質を基盤に必要量
- 10 を添加、させる工程、
- （５）被検物質を前記（３）又は（４）に記載の各基盤に必要量添加し、標識化単鎖抗体と該被検物質との結合性を解析する工程、
- （６）（５）の結合性結果をもとに、標識化単鎖抗体と被検物質との相互作用を質的又は量的に判定する工程。
- 15 27. 請求項25又は26に記載の解析方法に使用される試薬を含む抗原抗体反応の測定用試薬キット。
- 28.（追加）コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質翻訳系を使い請求項21～23に記載の固相化単鎖抗体の製造方法によって製造され天然型の抗体と同等のKd値を有する固相化単鎖抗体。